

**Totalsynthese von
(+)-Desoxypyrrrolin:
ein potentieller
biochemischer Marker
zur Diagnose der
Osteoporose**

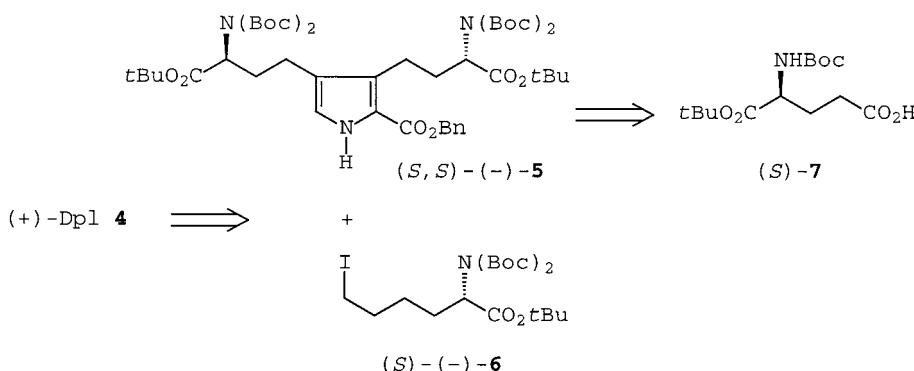
Maciej Adamczyk,*
Donald D. Johnson und
Rajarathnam E. Reddy

Bei Osteoporose handelt es sich um eine degenerative Knochenkrankheit, von der vorwiegend die ältere Generation, insbesondere Frauen nach der Menopause, betroffen ist.^[1] Diese Stoffwechselkrankheit entsteht infolge eines Ungleichgewichts im Knochenerneuerungsprozeß, wobei die Knochenresorption gegenüber der Knochenneubildung überwiegt. Zur Zeit wird Osteoporose mit einer histomorphometrischen Methode und einer Messung der Knochendichte diagnostiziert.^[2] Sowohl die Bemühungen hinsichtlich der Vorbeugung dieser Krankheit als auch der Entwicklung einer effektiven antiresorptiven Therapie förderten die Suche nach verlässlichen und nicht-invasiven biochemischen Markern für die Knochenresorption.^[1c, 3] Den traditionellen Assays auf Knochenresorptionsmarker, beispielsweise den Calcium-^[4] und Hydroxyprolin-Spiegel^[5] im Harn, fehlen die klinische Empfindlichkeit und Spezifität bei der Diagnostik der Osteoporose.

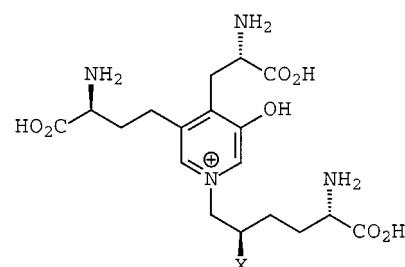
In den letzten Jahren gewannen die Pyridinium-Quervernetzungen (+)-Pyridinolin (Pyd) **1**^[6] und (+)-Desoxypyridinolin (Dpd) **3**^[7] an Bedeutung, da sie potentiell zur klinischen Diagnose von Osteoporose und anderer Knochenkrankheiten herangezogen werden können.^[8–10] 1981 postulierten Scott et al.^[11] die Existenz der Pyrrol-Quervernetzungen Pyrrololin (Pyl) **2** und Desoxypyrrrolin (Dpl) **4** in verschiedenen Geweben.^[12] Andere Arbeitsgruppen lieferten in nachfolgenden Studien weitere überzeugende Hinweise auf die Existenz von Pyrrol-Quervernetzungen.^[13, 14] Unglücklicherweise schlugen Versuche, die Quervernetzungen **2** und **4** zu isolieren, bisher fehl.^[3a,d] Man geht davon aus, daß **2** und **4** aus neutralem (2S,5R)-Hydroxylysin und (S)-Lysin, die in Kollagen enthalten sind, über einen von der Lysin-Oxidase katalysierten enzymatischen Prozeß gebildet werden, ähnlich wie bei der Entstehung der Pyridinium-Quervernetzungen **1** und **3**.^[3d, 13c,d,f] Hier beschreiben wir die erste Synthese der Pyrrol-Quervernetzung (+)-Desoxypyrrrolin (Dpl) **4** aus (4S)-5-(tert-Butyloxy)-4-[*(tert*-butyloxycarbonyl)amino]-5-oxopentansäure **7**.

Die Synthese von **4** verläuft über eine Alkylierung des Pyrroliderivates (*S,S*)-**5** mit dem Alkyliodid (*S*)-**6**, die anschließende hydrolytische Abspaltung der Schutzgruppen und die Entfernung der 2-Carboxybenzylestergruppe (Schema 1).

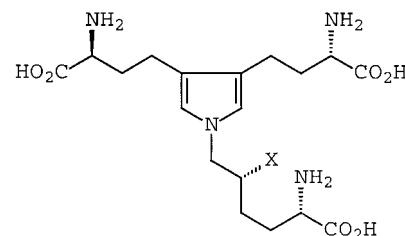
[*] Dr. M. Adamczyk, D. D. Johnson, Dr. R. E. Reddy
Division Organic Chemistry Research (9NM, AP20)
Diagnostics Division, Abbott Laboratories
100 Abbott Park Road, Abbott Park, IL 60064-6016 (USA)
Fax: (+1) 847-938-8927
E-mail: maciej.adamczyk@abbott.com



Schema 1. Retrosynthese von (+)-Desoxypyrrrolin (Dpl) **4**. Bn = Benzyl, Boc = *tert*-Butyloxycarbonyl.



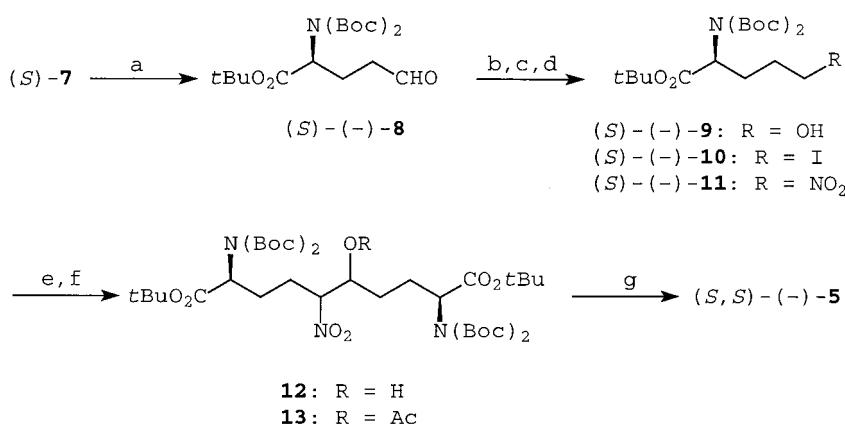
(+)-**1**: X=OH, Pyridinolin
(+)-**3**: X=H, Desoxypyridinolin



2: X=OH, Pyrrololin
(+)-**4**: X=H, Desoxypyrrrololin

Es war geplant, das Schlüsselintermediat (*S,S*)-**5** aus der α -Acetoxynitroverbindung **13** (siehe Schema 2) und Isocyanessigsäurebenzylester **14**^[15, 16] über eine basenkatalysierte Kondensation und Cyclisierung herzustellen. Die Verbindung **13** ist aus **7** zugänglich.

Käufliches (*S*)-**7** wird in den entsprechenden Aldehyd (*S*)-**8** überführt,^[17] der dann mit NaBH₄ in MeOH in 95 % Ausbeute zum Alkohol (*S*)-**9** reduziert wird (Schema 2).^[18] Die Hydroxygruppe in (*S*)-**9** wird durch ein Iodatom ersetzt (\rightarrow (*S*)-**10**), welches anschließend durch Umsetzen mit Natriumnitrit in DMF^[19] die entsprechende Nitroverbindung (*S*)-**11** in 55 % Ausbeute liefert. Bei der Kondensation von (*S*)-**11** mit dem Aldehyd (*S*)-**8** (Henry-Reaktion)^[20] in Gegenwart von 4-Dimethylaminopyridin in CH₂Cl₂ entsteht die α -Hydroxynitroverbindung **12** in 91 % Ausbeute als Diastereomerengemisch (Verhältnis 1:1). Da die beiden neuen chiralen Zentren (mit der NO₂- und OH-Gruppe) in **12** am Ende während der Bildung des Pyrrolrings verschwinden, wird **12** als Diastereomerengemisch eingesetzt.



Schema 2. Synthese von (S,S) -(-)-5. a) Siehe Lit. [17]; b) NaBH_4 (1.0 Äquiv.), MeOH , 0°C , 45 min, 95%; c) I_2 (1.5 Äquiv.), PPh_3 (1.6 Äquiv.), Imidazol (2.0 Äquiv.), THF , 23°C , 1.5 h, 94%; d) NaNO_2 (2.0 Äquiv.), DMF , 23°C , 30 min, 55%; e) (S) -(-)-8 (1.1 Äquiv.), DMAP, (4.0 Äquiv.), CH_2Cl_2 , 23°C , 8 d, 91%; f) Ac_2O (1.5 Äquiv.), DMAP (0.1 Äquiv.), THF , 23°C , 2 h, 96%; g) $\text{BnO}_2\text{CCH}_2\text{NC}$ **14** (1.3 Äquiv.), DBU (2.5 Äquiv.), THF , $0\text{--}23^\circ\text{C}$, 5 h, 57%. – DBU = 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en, DMAP = 4-Dimethylaminopyridin.

Zunächst wird **12** mit Ac_2O in THF nahezu quantitativ (96%) in das entsprechende Essigsäurederivat **13** überführt. Schließlich erhält man durch Kondensation des Diastereomerengemisches der α -Acetoxynitroverbindung **13** und Isocyanessigsäurebenzylester **14**^[15, 16] in Gegenwart von DBU in THF bei $0^\circ\text{C} \rightarrow$ Raumtemperatur und säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel das Schlüsselintermediat (S,S) -(-)-5 in 57% Ausbeute ($[\alpha]_D^{23} = -14.9$ ($c = 1.37$ in MeOH)).

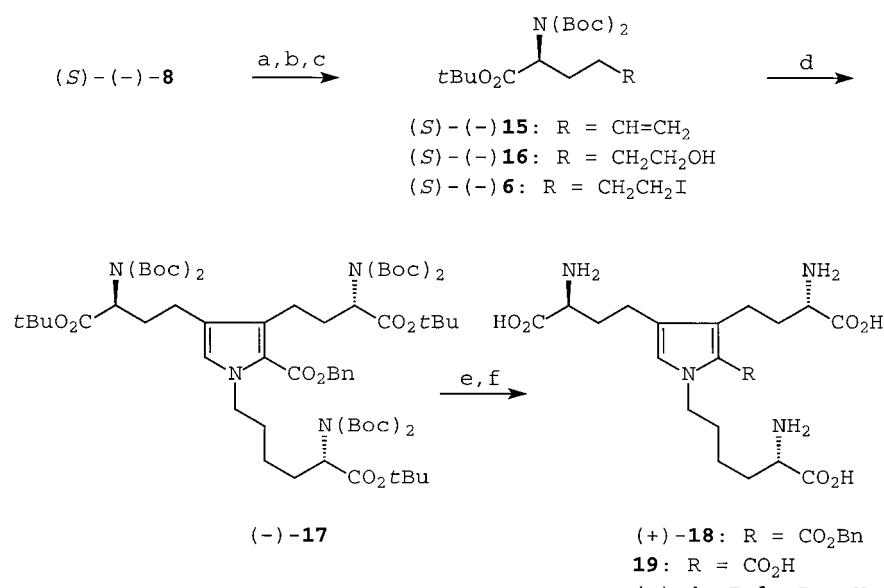
Der nächste Schritt der Synthese von (+)-**4** umfaßte die Einführung der Lysinseitenkette am Pyrrol-Stickstoffatom in (S,S) -(-)-5 über eine Alkylierung mit **6**. Das Alkyliodid (S) -(-)-6 wird aus dem Aldehyd (S) -(-)-8 in drei Stufen hergestellt (Schema 3). Zuerst wird (S) -(-)-8 in einer Wit-

tig-Reaktion^[17] um eine Methylengruppe verlängert; es entsteht das entsprechende Olefin (S) -(-)-15, das durch Hydroborierung in hervorragender Ausbeute in den Alkohol (S) -(-)-16 überführt wird. Die Hydroxygruppe von (S) -(-)-16 wird dann mit I_2 , PPh_3 und Imidazol in THF in 92% Ausbeute in das gewünschte Iodid (S) -(-)-6 umgewandelt. Die Behandlung von (S,S) -(-)-5 mit 1.0 Äquivalenten $t\text{BuOK}$ in THF und die anschließende Reaktion mit 2.0 Äquivalenten (S) -(-)-6 in Gegenwart von [18]Krone-6^[21] bei Raumtemperatur liefert nach Säulenchromatographie an Kieselgel das N-alkylierte Pyrrollderivat (-)-**17** in 42% Ausbeute.^[22] (-)-**17** ist an den Positionen 1, 3 und 4 des Pyrrolrings mit den erforderlichen Aminosäuren substituiert. Zur Synthese von (+)-Dpl **4** ist dann nur noch die Abspaltung der Schutzgruppen und die Entfernung der Benzylloxycarbonylgruppe in Position 2 des Pyrrolrings erforderlich. Dazu wird (-)-**17** zunächst mit Trifluoressigsäure und Wasser umgesetzt^[9a] und das dabei erhaltene Gemisch durch präparative Reversed-phase(RP)-HPLC gereinigt; man erhält (+)-**18** in 79% Ausbeute. Durch Hydrierung über 10% Pd/C in MeOH wird die Benzylgruppe von (+)-**18** entfernt; die dabei entstandene Carbonsäure **19** wird ohne weitere Reinigung direkt mit Trifluoressigsäure decarboxyliert.^[23] Nach Einengen des Reaktionsgemisches, Reinigung durch präparative RP-HPLC und Lyophilisierung erhält man **4**^[24] in 39% Ausbeute als blaßrosa Pulver ($[\alpha]_D^{23} = +20.6$ ($c = 0.17$ in H_2O)).

Wir haben eine allgemein anwendbare, konvergente Totalsynthese von (+)-Desoxypyrrrololin (Dpl) **4**, einer Quervernetzung in Kollagen, entwickelt, bei der ein käufliches chirales Edukt **7** eingesetzt wird. Die Methode wird momentan auf die Synthese von Pyrrololin **2** sowie verschiedene immunologisch wichtige Verbindungen (Antikörper und Sonden) übertragen, die für die Entwicklung von Assays zur Diagnose und Behandlung von Knochenkrankheiten benötigt werden.

Eingegangen am 18. Mai 1999 [Z13433]
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.*
1999, *38*, 3537–3539

Stichwörter: Kollagen • Naturstoffe • Osteoporose • Pyrrololine • Totalsynthesen



Schema 3. Synthese von (+)-**4**. a) MePPh_3Br (2.0 Äquiv.), $n\text{BuLi}$ (2.0 Äquiv.), THF , 0°C , 45 min, 61%; b) $\text{B}_2\text{H}_6 \cdot \text{THF}$ (1.3 Äquiv.), THF , $0\text{--}23^\circ\text{C}$, 17 h, 87%; c) I_2 (1.5 Äquiv.), PPh_3 (1.6 Äquiv.), Imidazol (2.0 Äquiv.), THF , 23°C , 1 h, 92%; d) (S,S) -(-)-5, $t\text{BuOK}$ (1.0 Äquiv.), [18]Krone-6 (0.1 Äquiv.), THF , 23°C , 7 h, 42%; e) TFA/Wasser (95:5), 23°C , 2 h, 79%; f) 10% Pd/C , H_2 , MeOH , 23°C , 1 h, dann TFA, 23°C , 15 min, 39%. – TFA = Trifluoressigsäure.

[1] a) M. Sato, T. A. Grese, J. A. Dodge, H. U. Bryant, C. H. Turner, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1–24; b) M. Zaidi, M. Pazianas in *Therapy of Osteoporosis* (Hrsg.: T. Dyson), Dervent Information, London, **1995**; c) *Principles of Bone Biology* (Hrsg.: J. P.

- Bilezikian, L. G. Raisz, G. Rodan), Academic Press, New York, **1996**; d) P. Da Silva Jardaine, D. Thomson, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1996**, 31, 211–220; e) J. G. Gums, *US Pharmacist* **1996**, (September), 85–96; f) D. R. Eyre, M. A. Paz, P. M. Gallop, *Annu. Rev. Biochem.* **1984**, 53, 717–749.
- [2] a) A. M. Parfitt, M. K. Drezner, F. H. Glorieux, J. A. Kanis, H. Malluche, P. J. Meunier, S. M. Ott, R. R. Rocker, *J. Bone. Miner. Res.* **1987**, 2, 595–610; b) S. Hagiwara, S.-O. Yang, C. C. Gluer, E. Bendavid, H. K. Genant, *Osteoporosis* **1994**, 20, 651–669; c) G. M. Blake, I. Fogelman in Lit. [1c], S. 1313–1332; d) H. K. Genant, T. F. Lang, K. Engelke, T. Fuerst, C.-C. Gluer, S. Majumdar, M. Jergas, *Calcif. Tissue Int.* **1996**, 59, Suppl. 1, S10–S15.
- [3] a) L. Knott, A. J. Baily, *Bone* **1998**, 22, 181–187; b) I. T. James, A. J. Walne, D. Perrett, *Ann. Clin. Biochem.* **1996**, 33, 397–420; c) M. J. Seibel, H. A. P. Pols in Lit. [1c], S. 1293–1311; d) D. R. Eyre in Lit. [1c], S. 143–153; e) W. Withhold, *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **1996**, 34, 785–799.
- [4] L. G. Raisz, *Nature* **1963**, 197, 1015–1016; b) R. J. Murrills in Lit. [1c], S. 1239–1251.
- [5] a) P. H. Weiss, L. Klein, *J. Clin. Invest.* **1969**, 48, 1–10; b) M. L. Efron, E. M. Bixby, C. V. Pryles, *New Engl. J. Med.* **1965**, 272, 1299–1309; c) J. P. Segrest, *Methods Enzymol.* **1982**, 82, 398–410; d) S. Lippincott, R. W. Chesney, A. Friedman, R. Pityer, H. Barden, R. B. Mazess, *Bone* **1989**, 10, 265–268.
- [6] Zur Isolierung von Pyd **1** siehe: D. Fujimoto, T. Moriguchi, T. Ishida, H. Hayashi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1978**, 84, 52–57.
- [7] Zur Isolierung von Dpd **3** siehe: T. Ogawa, T. Ono, M. Tsuda, Y. Kawanishi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1982**, 107, 1252–1257.
- [8] a) D. R. Eyre, H. Oguchi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, 92, 403–410; b) Z. Gunja-Smith, R. J. Boucek, *Biochem. J.* **1981**, 197, 759–762; c) S. P. Robins, *Biochem. J.* **1983**, 215, 167–173.
- [9] Zur Synthese von Pyridinium-Quervernetzungen siehe: a) M. Adamczyk, D. D. Johnson, R. E. Reddy, *Tetrahedron* **1999**, 55, 63–88; b) R. Waelchli, C. Beerli, H. Meigel, L. Revesz, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 2831–2836.
- [10] a) S. P. Robins, *Biochem. J.* **1982**, 207, 617–620; b) S. P. Robins, H. Woitge, R. Hesley, J. Ju, S. Seyedin, M. J. Seibel, *J. Bone. Miner. Res.* **1994**, 9, 1643–1649; c) U. M. Casserly, A. O'Rorke, M. J. Power, P. F. Fottrell, *Anal. Biochem.* **1996**, 242, 255–260; d) B. Gomez, Jr., S. Ardakanli, B. J. Evans, L. D. Merrell, D. K. Jenkins, V. T. Kung, *Clin. Chem.* **1996**, 42, 1168–1175; e) T. G. Rosano, R. T. Peaston, H. G. Bone, H. W. Woitge, R. M. Francis, M. J. Seibel, *Clin. Chem.* **1998**, 44, 2126–2132; f) H. Engler, D. Koerberle, B. Thuerlimann, H.-J. Senn, W. F. Riesen, *Clin. Chem. Lab. Med.* **1998**, 36, 879–885.
- [11] a) J. E. Scott, E. W. Hughes, A. A. Shuttleworth, *Biosci. Rep.* **1981**, 1, 611–618; b) J. E. Scott, R. Qian, W. Henkel, R. W. Glanville, *Biochem. J.* **1983**, 209, 263–264; c) P. D. Kemp, J. E. Scott, *Biochem. J.* **1988**, 252, 387–393.
- [12] Die Namen für die Pyrrol-Quervernetzungen Pyrrololin (Pyl) **2** und Desoxypyrrrololin (Dpl) **4** wurden in Analogie zu den Pyridinium-Quervernetzungen Pyridinolin (Pyd) **1** und Desoxypyridinolin (Dpd) **3** gewählt.
- [13] a) W. Henkel, R. W. Glanville, D. Greifendorf, *Eur. J. Biochem.* **1987**, 165, 427–436; b) D. J. Horgan, N. L. King, L. B. Kurth, R. Kuypers, *Arch. Biochem. Biophys.* **1990**, 281, 21–26; c) R. Kuypers, M. Tyler, L. B. Kurth, I. D. Jenkins, D. J. Horgan, *Biochem. J.* **1992**, 283, 129–136; d) R. Kuypers, M. Tyler, L. B. Kurth, I. D. Jenkins, D. J. Horgan, *Meat Sci.* **1994**, 37, 67–89; e) J. Risteli, H. Eriksen, L. Risteli, J. P. Mansell, A. J. Bailey, *J. Bone. Miner. Res.* **1994**, 9, Suppl. 1, A186; f) A. A. Hanson, D. R. Eyre, *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 26508–26516.
- [14] G. A. Kleter, J. J. M. Damen, J. J. Kettenes-van den Bosch, R. A. Bank, J. M. te Koppele, J. R. Veraart, J. M. ten Cate, *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, 1381, 179–190.
- [15] a) D. H. R. Barton, J. Kervagoret, S. Z. Zard, *Tetrahedron* **1990**, 46, 7587–7598; b) T. D. Lash, J. R. Bellettini, J. A. Bastian, K. B. Couch, *Synthesis* **1994**, 170–172.
- [16] a) M. Adamczyk, R. E. Reddy, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 2325–2326; b) M. Adamczyk, J. R. Fishbaugh, K. J. Heuser, J. M. Ramp, R. E. Reddy, M. Wong, *Tetrahedron* **1998**, 54, 3093–3112.
- [17] M. Adamczyk, D. D. Johnson, R. E. Reddy, *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, 10, 775–781.
- [18] Für alle neuen Verbindungen wurden zufriedenstellende spektroskopische (¹H- und ¹³C-NMR, MS) und Chromatographie-Daten erhalten.
- [19] A. J. Blake, E. C. Boyd, R. O. Gould, R. M. Paton, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1994**, 2841–2847.
- [20] a) L. Henry, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1895**, 13, 999; b) L. Henry, *C. R. Hebdo. Seances Acad. Sci.* **1885**, 120, 1265.
- [21] a) S. P. Tenis, J. W. Raggon, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 819–827; b) G. Stefancich, M. Artico, R. Silvestri, *J. Heterocycl. Chem.* **1992**, 29, 1005–1007.
- [22] (–)-**17**: $R_f = 0.42$ (Kieselgel, EtOAc/Hexan 2:8); $[a]_D^{20} = -6.8$ ($c = 2.0$ in MeOH); analytische RP-HPLC (Waters, RCM, μBondapak-C18-Säule 10 μm, 8 × 100 mm; MeCN/0.1proz. wäbr. Trifluoressigsäure (95:5), 2.0 mL min⁻¹, Detektion bei 215 nm): $R_t = 8.7$ min (97%); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 23 °C, TMS): $\delta = 7.43$ –7.26 (m, 5 H, Ar-H), 6.58 (s, 1 H, Pyrrol-H), 5.26 (q, 2 H, $J = 48.3$, 12.3 Hz, Ar-CH₂), 4.72–4.61 (m, 3 H, 3 × N-CH-CO₂tBu), 4.11 (t, 2 H, $J = 8.1$ Hz, Pyrrol-N-CH₂), 2.82–2.60 (m, 2 H), 2.44–1.24 (m, 12 H), 1.49 (s, 18 H), 1.48 (s, 18 H), 1.47 (s, 18 H), 1.44 (s, 9 H), 1.43 (s, 9 H), 1.42 (s, 9 H); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃, 23 °C, TMS): $\delta = 169.8$, 169.7, 169.6, 161.0, 152.5, 152.4, 136.6, 132.2, 128.5, 127.9, 126.5, 121.4, 118.2, 82.7, 82.5, 82.4, 81.1, 81.0, 77.2, 65.3, 59.3, 58.8, 58.3, 49.7, 31.7, 31.1, 29.2, 29.1, 28.0, 27.9, 23.8, 23.1, 21.3; ESI-MS: m/z (%): 1319 (100) [M+NH₄]⁺; HR-MS (FAB): ber. für C₆₈H₁₀₉N₄O₂₀: 1323.7427 [M+Na]⁺, gef.: 1323.7449.
- [23] A. G. H. Wee, E. Bunnenberg, C. Djerassi, *Synth. Commun.* **1984**, 14, 383–390.
- [24] (+)-Dpl **4**: $[a]_D^{20} = +20.6$ ($c = 0.17$ in H₂O); analytische RP-HPLC (Waters, RCM, μBondapak-C18-Säule 10 μm, 8 × 100 mm; MeCN/0.1proz. wäbr. Trifluoressigsäure (4:96), 2.0 mL min⁻¹, Detektion bei 215 nm): $R_t = 5.54$ min (96%); ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD, 23 °C, TMS): $\delta = 6.51$ (s, 2 H, Pyrrol-H), 3.92–3.78 (m, 5 H, 3 × N-CH-CO₂H und Pyrrol-N-CH₂), 2.64–2.52 (m, 4 H), 2.20–1.98 (m, 4 H), 1.94–1.82 (m, 2 H), 1.82–1.70 (m, 2 H), 1.48–1.38 (m, 2 H); ¹³C-NMR (75 MHz, D₂O (0.5 mL)/MeCN (2.0 μL), 23 °C): $\delta = 173.7$, 120.0, 119.7 (CN), 54.1, 54.0, 49.0, 31.6, 30.8, 30.1, 22.1, 20.7, 1.5 (CH₃); ESI-MS: m/z (%): 399 (100) [M+H]⁺; HR-MS (FAB): ber. für C₁₈H₃₁N₄O₆: 399.2244 [M+H]⁺, gef.: 399.2253.

Asymmetrische Totalsynthese von Fluvirucinin A₁**

Young-Ger Suh,* Soon-Ai Kim, Jae-Kyung Jung, Dong-Yun Shin, Kyung-Hoon Min, Bon-Am Koo und Hwa-Soon Kim

Die Fluvirucine, eine Klasse von Makrolactam-Antibiotika, die von *Actinomyces*-Arten produziert werden, haben wegen ihrer interessanten Strukturen und vielversprechenden biologischen Eigenschaften Aufmerksamkeit erregt.^[1] Fluviru-

[*] Prof. Y.-G. Suh, S.-A. Kim, J.-K. Jung, D.-Y. Shin, K.-H. Min, B.-A. Koo, H.-S. Kim
College of Pharmacy
Seoul National University
San 56–1, Shinrim-Dong, Kwanak-Gu, Seoul 151–742 (Südkorea)
Fax: (+82) 02-880-7875
E-mail: ygsuh@plaza.snu.ac.kr

[**] Diese Arbeit wurde durch das Basic Science Research Institute Program des koreanischen Bildungsministeriums (BSRI-97-3417) und vom Research Center for New Drug Development an der Seoul National University unterstützt.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.wiley-vch.de/home/angewandte/> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.